Original Articles Korean Circulation J 2000;30(12):1515-1523

흥분-수축 분리제가 심실세동의 동력학에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 심장혈관병원 심장내과학교실[1]
UCLA 의과대학 Cedars-Sinai 의료원 심장내과학교실[2]
이문형[1] · Hrayr S. Karagueuzian[2] · Peng-Sheng Chen[2]

The Effects of Excitation-Contraction Uncouplers on the Dynamics of Ventricular Fibrillation in Isolated Swine Right Ventricles

Moon-Hyoung Lee, MD[1], Hrayr S. Karagueuzian, PhD[2] and Peng-Sheng Chen, MD[2]

[1]Cardiology Division, Yonsei Cardiovascular Hospital, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea
[2]Division of Cardiology, Department of Medicine, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, California, USA

ABSTRACT

Background : Whether or not the excitation-contraction (EC) uncoupler, diacetyl monoxime (DAM) and cytochalacin D (Cyto D) alter the ventricular fibrillation activation patterns is unclear. **Methods** : We recorded single cell action potentials and performed optical mapping in isolated perfused swine right ventricles at different concentrations of DAM and cyto D during ventricular fibrillation and dynamic pacing. **Results** : Increasing concentration of DAM results in progressively shortened action potential duration measured to 90% repolarization (APD 90), reduced slope of the action potential duration restitution (APDR) curve, decreased Kolmogorov-Sinai entropy, and reduced number of ventricular fibrillation wavefronts. In all right ventricles, 15 to 20 mmol/l DAM converted ventricular fibrillation to ventricular tachycardia. The ventricular fibrillation could be reinduced after the DAM was washed out. In comparison, cyto D (10 to 40 μmol/l) has no effects on APDR curve or the dynamics of ventricular fibrillation. The effects of DAM on ventricular fibrillation are associated with reduced number of wavefronts and dynamic complexities in ventricular fibrillation. **Conclusion** : These results are compatible with Restitution Hypothesis of ventricular fibrillation and suggest that DAM may be unsuitable as an EC uncoupler for optical mapping studies of ventricular fibrillation in the swine right ventricles. **(Korean Circulation J 2000;30(12):1515-1523)**

KEY WORDS : Action potentials · Defibrillation · Electrophysiology · Reentry · Tachyarrhythmias.

서 론

광과민성(photentiometric, photosensitive) 염료를 이용한 광학적 지도화 기법(optical mapping technique)은 심방세동과 제세동의 연구에 중요한 기법으로 활발히 이용되고 있다. 이 기법은 심근세포의 탈분극과 재분극을 동시에 관찰할 수 있는 장점이 있어 회귀파(reentrant wave) 혹은 나선파(spiral wave)와 세동의 기전을 연구하는데 매우 중요하다. 그러나 이 기법은 심장근육이 수축함으로 해서 생기는 운동흔적(motion artifact)으로 인해 잡신호가 발생하여 연구결과의 해석에 중대한 오류를 범할 수 있다는 것이 단점이다. 이

논문접수일 : 2000년 12월 4일
심사완료일 : 2001년 1월 15일
교신저자 : 이문형, 120-752 서울 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 심장혈관병원 심장내과학교실
전화 : (02) 361-7071, 7084 · 전송 : (02) 393-2041
E-mail : mhlee@yumc.yonsei.ac.kr

런 기술적인 단점을 보완 혹은 배제하기 위한 한 방편으로 diacetyl monoxime(DAM, or 2,3 - butanedione monoxime, BDM) 같은 흥분 - 수축연결 분리제(Excitation - Contraction uncoupler : EC uncoupler)를 흔히 사용하고 있다.[1-6] 그러나 DAM은 근육수축 억제 작용뿐 아니라 세포막 전위에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.[7-9] 최근에 Riccio 등[10]은 DAM이 심실세동의 유도를 억제하고 심실세동을 보다 안정적인 빈맥으로 전환시키며 이는 DAM이 활동전위 복원성(action potential duration restitution : APDR) 곡선의 기울기를 낮춤으로써 야기된다고 보고한 바 있으나 지도화 기법을 이용하지 않아 심실세동의 활성양상(activation pattern)에 미치는 DAM의 효과에 관해서는 알려지지 않았다. 본 연구의 목적은 유리된 돼지 심장에서 DAM의 농도에 따른 심실세동의 활성양상과 APDR curve의 변화 양상을 규명하고자 하였다. 또한 개에서 활동전위에 별다른 영향이 없다고 알려진 다른 흥분 - 수축 분리제인 cytochalasin D(cyto D)가[7][11] DAM과 같은 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험조직과 광학적 지도화

모두 12마리의 돼지(20 30 kg)를 pentothal sodium 30 mg/kg 정주로 마취시킨 후 중앙 흉벽 절개술을 시행하고 표면 심전도의 지속적인 관찰 하에 신속하게 심장을 적출하였다. 이중 6마리는 DAM 투여군의 실험에 사용하였고, 6마리는 cyto D 투여군의 실험에 사용하였다. 적출한 심장을 4℃ Tyrode 용액(NaCl, 125.0 ; KCl, 4.5 ; $MgCl_2$, 0.5 ; $CaCl_2$, 0.54 ; NaH_2PO_4, 1.2 ; $NaHCO_3$, 24.0 ; glucose, 5.5 ; albumin, 50 mg/l)에 담근 상태에서 우측 관동맥에 6 - F polyethylene 도자를 삽입하고 이를 통해 지속적으로 95% 산소가 용해된 Tyrode 용액을 분당 15 cc의 속도로 주입시켰다. 그 후 우심실만을 심장으로부터 분리시키고 분리된 우심실 내에 분포하고 있는 관상동맥의 노출된 말단부는 3 - 0 silk로 결찰하여 전체 심근에 Tyrode 용액이 골고루 잘 관류되게 하였다.[12][13] Tissue bath내에 온도측정기를 설치하여 실험 전 기간 중 tissue bath내의 온도가 36.5℃를 유지하도록 하였다. Tissue bath 내에서는 95% 산소가 혼합되고 히터를 통해 37℃ Tyrode 용액을 흐르게 하여 관동맥에 의한 심근 관류 이외에도 조직의 표면이 관류되도록 하였다. 조직이 안정된 후 1 mol/l의 pyrimidine 4 - (2 - (6 - (dibutylamino) - 2 - naphthalenyl) - 1 - (3 - sulfopropyl) hydroxide(di - 4 - ANEPPS, Molecular Probes, Inc)로 20분간 염색한 후 심실세동과 동적 조율시(dynamic pacing)의 활성양상을 광학적 지도화 기법을 이용하여 기록하였다. 단일세포의 활동전위는 전통적인 유리전극(glass electrode)을 이용하여 기록하였으며 심전도는 단극도자를 조직의 양끝에 놓고 관찰, 기록하였다. 동적 조율은[14] 조율역치의 2배 내지 3배의 강도로 400 ms부터 시작하여 8회를 조율한 후 연속적으로 350, 300, 280, 260, 240, 230, 220, 210, 200, 190, 180, 170, 160, 150 ms로 8회씩 차례로 조율하였다. 동적 조율시에 기록한 활동전위로 APDR curve를 구하는데 이용하였다. 기본실험이 끝난 후 Tyrode 용액을 각기 다른 농도의 DAM(5, 10, 15 and 20 mmol/l)과 cyto D(10, 20 and 40 μmol/l)가 포함된 Tyrode 용액으로 바꾸어 실험을 계속하였다. 실험이 끝난 후 다시 순수한 Tyrode 용액으로 조직을 관류하여 세척후의 세동 및 동적 조율시의 활성양상을 기록하였다.

광학적 지도화 기법에서 광원으로써 510±40 nm의 band - pass filter를 적용한 250 - W tungsten - halogen lamp(Model 66196, Oriel Corp., Stratford, CT, USA)와 파장이 532 nm인 5 - W solid state laser(Verdi, Coherent, Inc. Laser Group, Santa Clara, CA, USA)를 사용하였으며 광원에 의해 유도된 형광은 600 nm long - pass filter(R60, Nikon, Tokyo, Japan)로 여과하여 25 mm/f 0.85 video lens(Fujinon CF25L, Fuji Photo Optical Co., Omiya City, Japan)를 장착한 12 - bit digital charge coupled device(CCD : CA - D1 - 0256T or CA - D1 - 0128T, Dalsa Inc., Ontario, Canada) 카메라로 기록하였다. 카메라의 shutter 속도는 3.75 ms이고 해상능은 96×96 pixel이었다. 광학적 지도화 후 얻은 자료는 frame grabber(ICPCI - DIG16, Imaging Technology, Bedford, MA, USA)가 장착된 개인용 콤퓨터로 전송하여 분석하였다.

형광신호처리

형광신호는 잡음을 줄이기 위해 각각의 pixel 신호에 5배수 시, 공간적 여과를 적용하여 median 값을 각

pixel의 신호로 대치한 후 역전시켰다. 이 과정을 전 신호에 적용하여 새 값을 구한 후에 최대 값을 255로 하고 최소 값을 0으로하여 신호를 재배치 하였다. 이 과정을 통해 얻은 pixel의 해상도는 0.27 mm에서 0.68 mm로 감소하였다.

신호잡음을 최소화한 형광신호는 자료분석을 위해 컬러동영상으로 변환하였다. 최대값은 노란색으로 대치하여 탈분극이 극대로 된 상태를 의미하며, 최소값은 검정으로 변환하여 재분극된 상태를 표시하게 하였다. 이렇게 함으로써 탈분극기간은 검정색에서 붉은색, 노란색까지 128단계의 색으로 표시하였고, 재분극기간은 노란색에서 파란색, 검정으로 역시 128단계의 색으로 표시하였다. 세동시 흥분-수축 분리제가 활성양상에 미치는 영향을 정량화하기 위해 매 100번째 frame의 흥분 파형수를 계수하여 평균으로 파형수로 결정하였다. 한 frame에서 파형수는 광학적 지도상 재분극에 의해 서로 독립된 활성도를 보이며 2개의 연속적인 frame에서 각기 다른 방향으로 진행되는 것만을 계수하였다.

심실세동의 활동전위와 동적 복원성(Dynamic restitution)

활동전위의 최대점과 활동전위 사이의 기간, 활동전위기간의 90%값(APD_{90})과 확장기 기간(diastolic interval : DI)을 컴퓨터로 산정하였으며 활동전위복귀곡선은 APD_{90}과 그 활동전위 직전의 DI값 사이의 관계를 ORIGIN 5.0(Microcal Software, Inc., Northamton, MA, USA)의 exponential fitting을 이용하여 작성하였다.[13] Poincáre plots은 연속적인 활동전위 사이의 기간과 그 직전의 활동전위 사이 기간으로 구하였다.[15] 심실세동의 불규칙적인 활성정도를 정량화 하기 위해 Kolmogorov-Sinai Entropy(KE)를 기존의 두 가지 방법으로 계산하였다.[13)16-18]

통계처리

자료의 통계처리와 분석은 ORIGIN(Microcal Software, Inc., Northampton, MA, USA)을 이용하였다. 연속형 자료는 평균±표준편차로 표시하였고, 세군 사이의 자료는 ANOVA, 두 군사이의 자료의 처리는 Student t-test로, 활동전위복귀곡선과 KE 값은 Pearson correlation으로 비교하였다. p값이 0.05이하인 경우에 통계학적 유의성이 있다고 보았다.

결 과

흥분-수축 분리제가 활동전위기간(APD_{90})에 미치는 영향

DAM과 cyto D는 APD_{90}에 다른 영향을 주었다. Fig. 1의 예에서 보는 바와 같이 DAM의 농도가 증가함에 따라 APD_{90}은 감소하였으며 DAM을 세척해 낸 후에는 거의 정상값으로 환원되었다. 그러나 cyto D는 10에서 40 μmol/l까지 APD_{90}에 영향을 주지 않았다. 즉 DAM의 투여 농도를 5, 10, 15, 20 mmol/l로 늘임에 따라 APD_{90}은 각각 37.7%, 38.3%, 45%, 48.3% 감소하였으나($p<0.001$), cyto D군에서는 농도에 따른 APD_{90}의 변화가 관찰되지 않았다(Table 1).

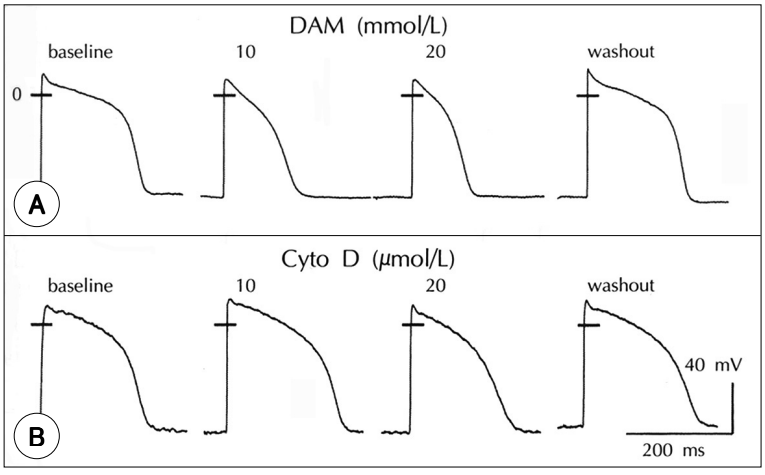

Fig. 1. Transmembrane potentials recorded from the epicardium of swine RV. DAM causes concentration-dependent, reversible APD90 shortening (Panel A). Panel B, cyto D has little effect on the APD90.

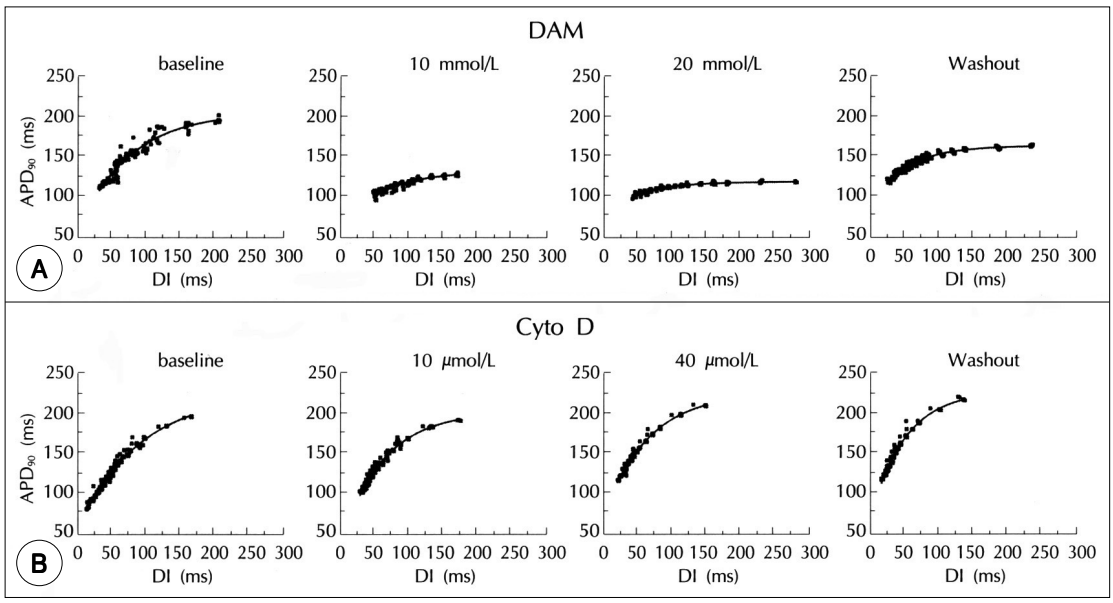

Fig. 2. Effects of increasing concentrations of DAM (Panel A) and cyto D (Panel B) on the dynamic APD restitution curves determined from a swine RV epicardium.

Table 1. Effects of DAM and cyto D on the dynamics of VF

A. Effects of DAM	Control	5 mmol/L	10 mmol/L	15 mmol/L	20 mmol/L	Washout
APD90 (ms) at 400 ms CL	197.2±27.4	122.8±18.8*	121.7±20.6*	108.5±17.4*	102.0±16.2*	174.9±16.4
(dV/dt)max (V/s) at 400 ms CL	63.2±41.7	84.6±52.2	96.2±14.0	82.7±33.4	72.4±41.0	121.1±41.8
Resting membrane potential (mV) at 400 ms CL	-64.4±14.1	-68.8±10.5	-70.5±5.5	-69.5±12.2	-60.2±11.7	-74.3±9.3
AP amplitude (mV) at 400 ms CL	74.4±10.0	77.3±17.3	74.1±7.0	72.6±10.4	65.7±11.3	82.3±7.8
Shortest DI (ms) during dynamic APDR curve determination	31.9±14.8	49.1±21.4	48.5±10.2	49.7±15.7	64.7±17.1†	28.8±10.1
Max slope of APDR curve	1.14±0.38	0.71±0.25*	0.50±0.22*	0.33±0.24*	0.21±0.14*	0.77±0.22
Kolmogorov entropy (A)	8.72±0.49	8.36±1.13*	6.71±1.36*	5.75±1.18*	4.94±0.30*	8.34±0.32
Kolmogorov entropy (B)	0.34±0.15	0.22±0.20*	0.07±0.09*	0.06±0.08*	0.01±0.01*	0.25±0.16
No. of wavelets	3.4±0.6	2.7±0.8*	1.8±0.8*	1.4±0.7*	1.0±0.0*	2.8±0.8

B. Effects of Cyto D	Control	10 μmol/L	20 μmol/L	40 μmol/L	Washout
APD90 (ms) at 400 ms CL	189.8±27.4	175.6±30.6	189.2±34.2	184.2±36.0	196.2±44.0
(dV/dt)max (V/s) at 400 ms CL	63.9±38.7	87.9±46.1	76.5±38.9	71.6±11.4	85.8±35.2
Resting membrane potential (mV) at 400 ms CL	-66.1±9.0	-64.1±13.5	-65.4±12.0	-72.6±7.3	-76.7±13.4
AP amplitude (mV) at 400 ms CL	72.6±12.8	76.4±14.7	75.2±13.8	76.44±6.1	77.2±20.8
Shortest DI (ms) during dynamic APDR curve determination	41.2±8.8	38.6±10.8	44.2±15.3	52.5±37.6	49.3±38.9
Max slope of APDR curve	1.29±0.45	1.29±0.61	1.34±0.54	1.10±0.54	1.47±0.84
Kolmogorov entropy (A)	7.73±0.35	7.83±0.32	7.69±0.45	7.30±0.56	7.48±0.34
Kolmogorov entropy (B)	0.32±0.13	0.30±0.12	0.41±0.22	0.31±0.18	0.29±0.19
No. of wavelets	3.4±0.5	3.2±0.6	3.2±0.6	3.2±0.6	3.2±0.5

Max or max indicates maximum
† : $p<0.01$ compared with control
* : $p<0.001$ compared with control
CL : cycle length

흥분-수축 분리제가 활동전위기간복귀곡선(APDR curve)에 미치는 영향

각각의 군에서 약제를 투여하기 전 APDR curve의 최대 기울기의 평균값은 DAM군에서 1.14±0.38, cyto D군에서 1.29±0.45로 양군간에 차이가 없었다. DAM군에서는 약물의 농도를 증가시킴에 따라 농도에 반비례하여 최대기울기가 감소하였으나 cyto D군에서는 농도변화에 따른 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 2, Table 1).

흥분-수축 분리제가 심실세동의 활성양상에 미치는 영향

Fig. 3은 세동의 활성양상에 흥분-수축 분리제가 미치는 영향을 요약한 것이다. Poincáre plots으로 심실세동의 활성양상을 4단계로 구분할 수 있는데[13)15)] 첫째, 부정형의 양상으로 가장 높은 단계의 복잡성을 표현하고(검은색) 둘째, signet ring과 유사한 양상은 그 다음 단계이며(그물선), 셋째, 군락은 낮은 단계이고(평행선) 넷째, 점은 가장 낮은 단계를 나타낸다(무색)(Fig. 3C). DAM을 투여하기 전에는 부정형이나 signet ring과 같이 복잡한 양상을 보이나 DAM의 투여 농도를 증가시킴에 따라 부정형에서 정형으로 점차적으로 변환되었고 DAM의 농도가 20 mmol/l에서는 모든 심실세동이 규칙적인 심실빈맥으로 전환되어 Poincáre plots은 점으로 표현되었다. 이런 일련의 변화는 가역적인 양상을 보였다. 그러나 cyto D군에서는 모든 농도에서 복잡한 활성양상을 보였다(Fig. 3B). 광학적 지도기법과 동시에 기록된 실제 활동전위 양상과 심전도는 DAM을 투여하기 전에는 심실세동의 양상을 보이다가 DAM을 투여하면 농도에 따라 심실빈맥으로 점진적으로 전환되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3D and 3E).

Kolmogorov entropy

실험의 각 단계에서 계산한 두 가지 Kolmogorov-Sinai entropy(KE)[13)16)] 값은 두 가지 방법 모두에서 같은 결과를 보였다. DAM군에서는 KE값이 농도가 증

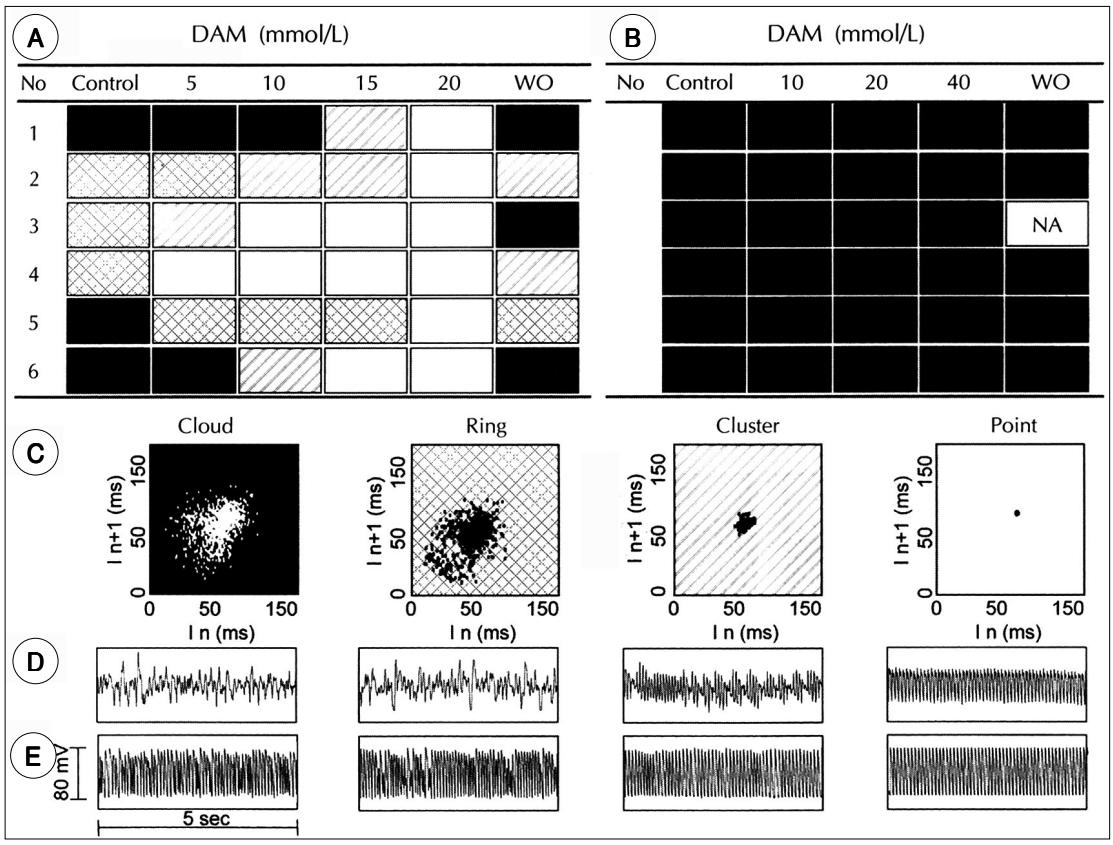

Fig. 3. Effects of DAM and cyto D on spatiotemporal complexities of VF. See text for details.

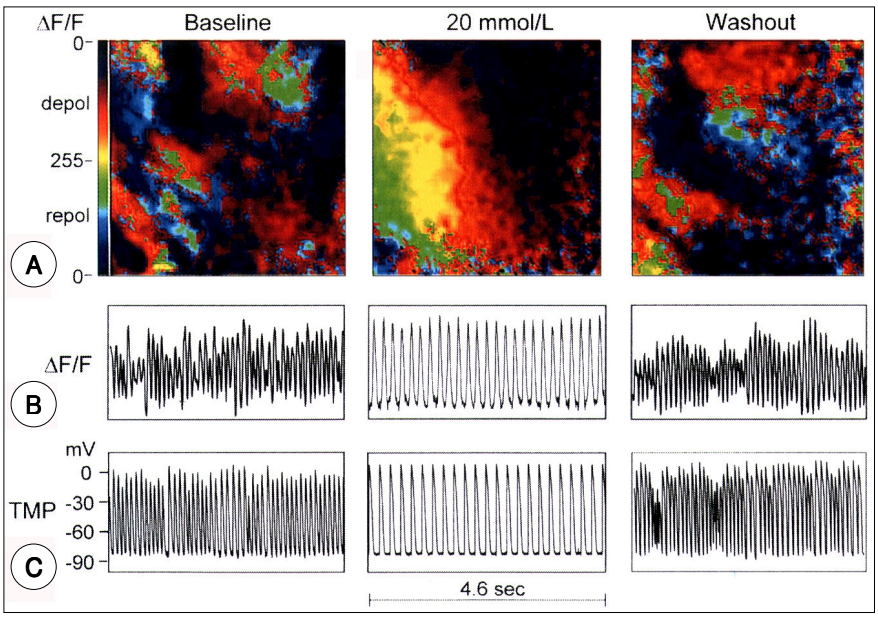

Fig. 4. Effects of DAM on wavelet number and TMP recordings. A, snap shots of membrane potential determined by optical mapping. We used color spectrum to represent membrane potentials. Black colors represent repolarized tissue just before the upstroke of the action potential. The color turns red as the membrane is depolarized. When the action potential reaches its peak, the color turns yellow. The color then gradually changes from yellow to green, blue and eventually back to black during repolarization. The wavelets were considered to be different if they had different directions of propagation and were separated from each other by blue or black areas. At 20 mmol/L of DAM, monomorphic tachycardia was induced in all preparations. There were multiple wavelets during VF at baseline (wavelet number=4) and after washout (wavelet number=3). However, with 20 mmol/L of DAM, there was a single large wavefront that repetitively invade the mapped region from left lower corner of the mapped tissue. Panels B and C show corresponding fluorescent signals and single cell TMPs, respectively, of the activation maps shown in Panel A. depol, depolarization ; repol, repolarization.

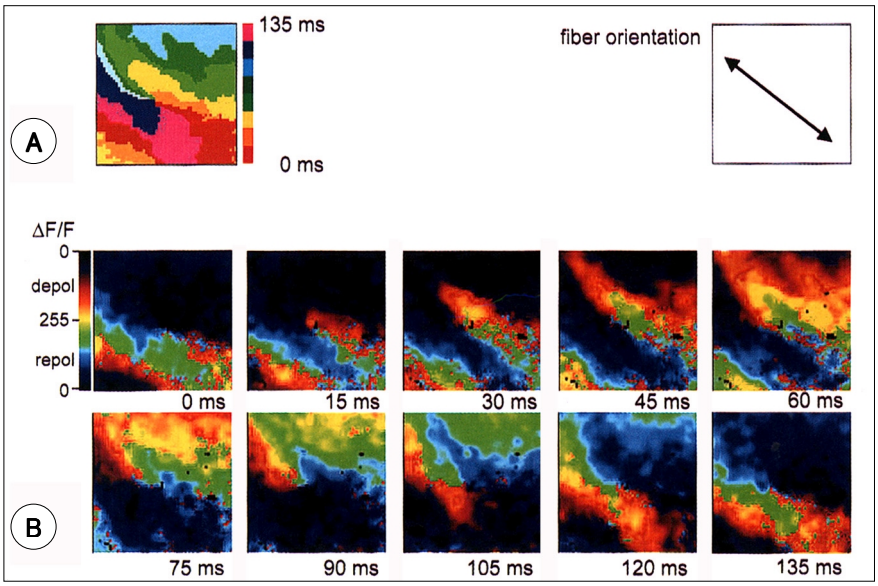

Fig. 5. A stationary spiral wave induced after 20 mmol/L of DAM perfusion. Panel A, isochrone map of the activation sequences shown in panel B (t=0 to 135 ms). Red is the first activated site and purple the last.

가함에 따라 가역적으로 감소하였으며 KE값과 APDR 곡선의 최대기울기와 사이에 두 가지 방법 모두에서 통계적으로 유의한 상관관계가 있었다(r=0.93, p=0.007 vs r=0.98, p=0.001). 그러나 cyto D군에서는 농도 변화에 따른 KE값의 변화가 두 가지 방법 모두에서 관찰되지 않았다(Table 1).

흥분-수축 분리제가 심실세동의 흥분파수에 미치는 영향

약제를 투여하기 전 모든 조직에서 평균 3.4개의 파가 관찰되었으며 양군간에 차이는 없었다(3.4±0.6, DAM 투여군 vs 3.4±0.5, cyto D 투여군). DAM 투여군에서는 농도가 증가함에 따라 흥분파의 수가 점차 감소하는 양상을 보였으나 cyto D투여군에서는 변화가 관찰되지 않았다(Table 1). Fig. 4A는 DAM을 투여하기 전, 20 mmol/l를 투여한 후 그리고 세척후의 광학적 지도의 결과를 보여주고 있다. Fig. 4B and 4C는 그에 상응하는 광학적 신호와 활동전위 기록을 나타내고 있는데 Fig. 4에서 보는 바와 같이 고농도의 DAM을 투여하는 경우에는 반복적이고 규칙적인 파형이 linear wave의 양상, 혹은 회귀성 빈맥의 형태로 관찰되었다(Fig. 5).

고 안

심실세동과 Restitution hypothesis

Restitution hypothesis[19]에 따르면 APDR의 성상이 심실세동의 생성과 유지에 중요한 요인이라고 하여 이를 조작함으로써 효과적으로 심실세동을 방지할 수 있을 것이라고 하였다. Nolasco와 Dahlen[20]은 심근조직에서 빠르게 조율을 할 때 APDR curve의 기울기가 증가함에 따라 조직이 불안정해진다고 처음 언급하였는데 이 후 많은 연구자들이 APD restitution특성이 교대맥(alternance) 생성에 중요한 역할을 한다고 주장한 바 있다.[19]

APD restitution은 APDR curve와 이 curve의 최대기울기로 정량화 할 수 있는데 이때 기울기가 1 이상이면 조직의 역동성이 증가하여 불안정한 파형을 보이다가 흥분파분리(wavebreak)를 초래하게 되며 궁극적으로 심실세동에 이르게 된다. 따라서 verapamil, DAM 혹은 bretylium등과 같이 APDR curve의 기울기를 감소시키는 것으로 알려진 약제는 심실세동의 역동성을 억제하여[10][21] 심실세동의 유도를 억제하고 기왕의 심실세동을 심실빈맥으로 전환시키게 된다.[10][12]

DAM과 Cyto D

DAM은 광학적 지도화 기법에 흥분-수축 분리제로 가장 흔히 쓰이는 물질인데[1-6] Liu 등[9]은 DAM(5 20 mmol/L)이 농도에 비례하여 APD_{90}과 불응기를 감소시킨다고 보고한 바 Riccio 등[10]은 나아가서 DAM이 광학적 지도화에 흔히 쓰이는 농도에서 심실세동을 규칙적인 빈맥으로 전환시킬 수 있다고 보고한 바 있다. 한편 DAM과 cyto D 모두 근수축을 억제하는데 Biermann 등[7]은 10 mmol/l의 DAM과 80 μmol/l의 cyto D가 근수축 억제력에 비슷한 정도의 효과를 보인다고 하여 이들의 결과를 종합하면 DAM이 근수축 억제제로서는 cyto D보다 덜 효과적이지만 조직의 전기생리학적 성상의 변화에는 cyto D보다 강력한 영향을 미친다고 할 수 있겠다.

DAM의 작용기전은 복합적인데 이미 토끼,[9] rat[8] 그리고 guinea pig[22]의 심근세포에서 L-type calcium current를 감소시키고 토끼[9]와 rat[8]의 심근세포에서 delayed rectifier K+ current를 감소시켜 rat[23]을 제외한 고양이,[24] 양,[9] guinea pig[9][22]과 개[7][25]의 심근세포에서 전체적으로 APD_{90}과 불응기를 감소시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 F-actin 분해제인 cyto D는 개[7]의 활동전위의 특성에 영향을 미치지 않고 오히려 mouse[26]에서는 APD_{90}을 증가시키는 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서는 Riccio 등[10]이 보고한 바와 마찬가지로 DAM은 농도에 비례하여 APD_{90}을 단축하고 APDR curve의 기울기를 가역적으로 낮추며, 나아가서 DAM은 심실세동의 활성도를 억제하여 고농도에서는 규칙적인 심실빈맥으로 전환케 함을 관찰하였다. 반면에 cyto D는 APDR curve에 영향이 없었으며 심실세동의 활성도에도 영향을 미치지 않았다. 이 결과로 보아 cyto D가 DAM에 비해 광학적 지도화 기법을 통한 심실세동의 기전 연구에 더 적합한 흥분-수축 분리제라고 할 수 있겠다.

심실세동에서 규칙적인 빈맥으로의 전환 기전(Alternative mechanisms for VF to VT transition)

심실세동의 기전을 설명하기 위한 가설로 restitution hypothesis 이외에도 두 가지 가설이 더 있다. 하나는

wavelength hypothesis[27]로서 흥분파의 파장(불응기와 전도속도의 곱)이 회귀기전의 중요한 요소라고 하는 가설이다. 이 가설에 따르면 흥분파의 파장이 길어지면 부정맥의 발생을 억제하고 파장이 단축되면 부정맥이 잘 생긴다고 할 수 있겠는데 본 연구에서는 DAM을 투여하여 APD_{90}이 짧아졌음에도 불구하고 심실세동이 규칙적인 심실빈맥으로 전환되었고, Samie 등[28]은 칼슘통로 차단제인 verapamil 역시 APD_{90}을 단축하면서 심실세동을 규칙적인 빈맥으로 전환 시킨다고 보고하였다. 이 현상은 칼슘이온이 전도속도가 매우 느린 부위 - 예를 들면 회귀파의 중심부위 - 에서 활동전위의 중요한 요소[29]이므로 칼슘통로 차단제의 투여는 이 부위에 작용하여 회귀파의 중심부(core)를 확대시켜 파장을 길게 하여 심실세동이 규칙적인 빈맥으로 전환된다고[28] 설명할 수 있다. 이 기전으로 본 연구에서 관찰된 심실세동의 동력학에 미치는 DAM의 효과를 설명할 수 있겠다.

■연구의 제한점

본 연구에서는 cyto D가 활동전위와 APDR curve에 영향을 미치지 않았으나 타 보고에 의하면 cyto D는 peak sodium current를 억제하여 흥분파의 전도속도와 파장을 감소시킨다고 하였다.[30] 비록 Wu 등[11]은 10 μmol/l의 cyto D의 투여가 transmural conduction velocity에 영향이 없었다고는 하였으나 본 연구에 사용된 농도의 cyto D에서도 같은 결과를 보이는 지는 알 수 없다. 본 연구에서는 3차원의 조직에 광학적 지도화 기법을 적용했기 때문에 이 기법의 기술적인 제한으로 인해 3차원적인 실제 전도속도를 구할 수가 없었다.

요 약

연구목적 :

광학적 지도화 기법에 흔히 사용되는 흥분 - 수축 분리제인 DAM은 근육수축 억제 작용뿐 아니라 세포막 전위에 영향을 미쳐 심실세동의 유도를 억제하고 심실세동을 보다 안정적인 빈맥으로 전환시키는데 이는 DAM이 APDR curve의 기울기를 낮춤으로써 야기된다고 보고된 바 있으나 심실세동의 활성양상(activation pattern)에 미치는 DAM의 효과에 관해서는 알려지지 않았다. 본 연구의 목적은 유리된 돼지 심장에서 DAM의 농도에 따른 심실세동의 활성양상과 APDR curve의 변화 양상을 규명하고자 하였다. 또한 개에서 활동전위에 별다른 영향이 없다고 알려진 다른 흥분 - 수축 분리제인 cyto D가 DAM과 같은 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

방 법 :

유리된 돼지 심장을 광과민성 염료로 염색한 후 동적 조율을 할 때와 심실세동시에 세포 활동전위측정과 광학적 지도화를 수행하여 자료를 얻은 후 APDR curve plotting, Kolmogorov - Sinai entropy, Poincáre plots, pseudocolor animation기법을 이용하여 자료를 분석하였다.

결 과 :

1) DAM 투여군과 cyto D 투여군에서 투여 전의 활동전위 특성이나 심실세동의 활성양상에 차이가 없었다.

2) DAM을 5, 10, 15, 20 mmol/l로 투여하였을 때 APD 90은 각각 37.7%, 38.3%, 45%, 48.3% 감소하였다($p<0.001$). DAM 투여군에서 APDR curve의 최대 기울기는 감소하였고, 광학적 지도화 기법으로 관찰한 흥분파의 수도 감소하였다. 고농도의 DAM(15 20 mmol/l) 투여는 심실세동의 활성도를 감약시켜 심실세동을 규칙적인 심실빈맥으로 전환시켰으며 이 결과는 모두 가역적이었다.

3) 반면에 cyto D투여군에서는 활동전위나 심실세동의 동력학에 변화가 관찰되지 않았으며 최대 40 μmol/l까지 투여해도 심실세동이 지속되었다.

결 론 :

Diacetyl monoxime의 투여는 유리된 돼지의 심장조직에서 APD 90과 APDR curve에 농도에 따른 영향을 끼치고 그 결과로 심실세동의 활성양상에 영향을 미쳐 고농도에서는 심실세동이 심실빈맥으로 전환됨을 알 수 있었다. 반면 cyto D는 APDR curve나 심실세동의 활성양상에 별다른 영향을 주지 않았다. 이 결과는 심실세동에서 restitution hypothesis과 부합하며, 또한 이 연구 결과로 미루어 보면 흥분 - 수축 분리제로 흔히 쓰이는 DAM이 심실세동의 광학적 지도화 기법에 부적절하다 할 수 있다.

중심 단어 : 활동전위 · 제세동 · 전기생리 · 회귀 · 빈맥증.

REFERENCES

1) Banville I, Gray RA, Ideker RE, Smith WM. *Shock-induced figure-of-eight reentry in the isolated rabbit heart. Circ Res 1999;85:742-52.*
2) Davidenko JM, Pertsov AM, Salomonsz R, Baxter W, Jalife J. *Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac tissue. Nature 1992;355:349-51.*
3) Efimov IR, Cheng Y, Van Wagoner DR, Mazgalev T, Tchou PJ. *Virtual electrode-induced phase singularity: A basic mechanism of defibrillation failure. Circ Res 1998; 82:918-25.*
4) Gray RA, Jalife J, Panfilov A, Baxter WT, Cabo C, Davidenko JM, *et al. Nonstationary vortexlike reentrant activity as mechanism of polymorphic ventricular tachycardia in the isolated rabbit heart. Circulation 1995;91: 2454-69.*
5) Knisley SB, Hill BC, Ideker RE. *Virtual electrode effects in myocardial fibers. Biophys J 1994;66:719-28.*
6) Pertsov AM, Davidenko JM, Salomonsz R, Baxter WT, Jalife J. *Spiral waves of excitation underlie reentrant activity in isolated cardiac muscle. Circ Res 1993;72:631-50.*
7) Biermann M, Rubart M, Moreno A, Wu J, Josiah-Durant A, Zipes DP. *Differential effects of cytochalasin D and 2,3 butanedione monoxime on isometric twitch force and transmembrane action potential in isolated ventricular muscle: Implications for optical measurements of cardiac repolarization. J Cardiovasc Electrophysiol 1998;9:1348-57.*
8) Coulombe A, Lefevre IA, Deroubaix E, Thuringer D, Coraboeuf E. *Effect of 2,3-butanedione 2-monoxime on slow inward and transient outward currents in rat ventricular myocytes. J Mol Cell Cardiol 1990;22:921-32.*
9) Liu Y, Cabo C, Salomonsz R, Delmar M, Davidenko J, Jalife J. *Effects of diacetyl monoxime on the electrical properties of sheep and guinea pig ventricular muscle. Cardiovasc Res 1993;27:1991-7.*
10) Riccio ML, Koller ML, Gilmour RFJ. *Electrical restitution and spatiotemporal organization during ventricular fibrillation. Circ Res 1999;84:955-63.*
11) Wu J, Biermann M, Rubart M, Zipes DP. *Cytochalasin D as excitation-contraction uncoupler for optically mapping action potentials in wedges of ventricular myocardium. J Cardiovasc Electrophysiol 1998;9:1336-47.*
12) Garfinkel A, Kim Y-H, Voroshilovsky O, Qu Z, Kil JR, Lee M-H, *et al. Preventing ventricular fibrillation by flattening cardiac restitution. Proc Natl Acad Sci USA 2000;97:6061-6.*
13) Kim Y-H, Garfinkel A, Ikeda T, Wu T-J, Athill CA, Weiss JN, *et al. Spatiotemporal complexity of ventricular fibrillation revealed by tissue mass reduction in isolated swine right ventricle. Further evidence for the quasiperiodic route to chaos hypothesis. J Clin Invest 1997;100: 2486-500.*
14) Voroshilovsky O, Qu Z, Lee M-H, Ohara T, Fishbein GA, Huang HL, *et al. Mechanisms of ventricular fibrillation induction by 60-Hz alternating current in isolated swine right ventricle. Circulation 2000;102:1569-74.*
15) Garfinkel A, Chen P-S, Walter DO, Karagueuzian HS, Kogan B, Evans SJ, *et al. Quasiperiodicity and chaos in cardiac fibrillation. J Clin Invest 1997;99:305-14.*
16) Hilborn RC. *Chaos and nonlinear dynamics;1994. p. 386-90.*
17) Kolmogorov AN. *A new metric invariant of transitive dynamical systems and automorphisms in Lebesgue spaces. Dokl Acad Nauk SSSR 1958;119:861-4.*
18) Sinai YG. *On the concept of entropy of a dynamical system. Dokl Acad Nauk SSSR 1959;124:768-78.*
19) Weiss JN, Garfinkel A, Karagueuzian HS, Qu Z, Chen P-S. *Chaos and the transition to ventricular fibrillation: A new approach to antiarrhythmic drug evaluation. Circulation 1999;99:2819-26.*
20) Nolasco JB, Dahlen RW. *A graphic method for the study of alternation in cardiac action potentials. J Appl Physiol 1968;25:191-6.*
21) Chorro FJ, Canoves J, Guerrero J, Mainar L, Sanchis J, Such L, *et al. Alteration of ventricular fibrillation by flecainide, verapamil, and sotalol: An experimental study. Circulation 2000;101:1606-15.*
22) Gwathmey JK, Hajjar RJ, Solaro RJ. *Contractile deactivation and uncoupling of crossbridges. Effects of 2,3-butanedione monoxime on mammalian myocardium. Circ Res 1991;69:1280-92.*
23) Coulombe A, Lefevre IA, Deroubaix E, Coraboeuf E. *Effect of diacetyl monoxime on transient outward current in rat ventricular myocytes. Pflugers Arch 1989;414: S173-S174.*
24) Wiggins JR, Reiser J, Fitzpatrick DF, Bergey JL. *Inotropic actions of diacetyl monoxime in cat ventricular muscle. J Pharmacol Exp Ther 1980;212:217-24.*
25) Bergey JL, Reiser J, Wiggins JR, Freeman AR. *Oximes: 'enzymatic' slow channel antagonists in canine cardiac purkinje fibers? Eur J Pharmacol 1981;71:307-19.*
26) Jalife J, Morley GE, Tallini NY, Vaidya D. *A fungal metabolite that eliminates motion artifacts. J Cardiovasc Electrophysiol 1998;9:1358-62.*
27) Rensma PL, Allessie MA, Lammers WJEP, Bonke FIM, Schalij MJ. *Length of excitation wave and susceptibility to reentrant atrial arrhythmias in normal conscious dogs. Circ Res 1988;62:395-410.*
28) Samie FH, Mandapati R, Gray RA, Watanabe Y, Zuur C, Beaumont J, *et al. A mechanism of transition from ventricular fibrillation to tachycardia: Effect of calcium channel blockade on the dynamics of rotating waves. Circ Res 2000;86:684-91.*
29) Laurita KR, Singal A, Rosenbaum DS. *High-resolution optical mapping of intracellular calcium and transmembrane potential during reentry. Pacing Clin Electrophysiol 1999;22:702(Abstract).*
30) Undrovinas AI, Shander GS, Makielski JC. *Cytoskeleton modulates gating of voltage-dependent sodium channel in heart. Am J Physiol 1995;269:H203-H214.*